

植物细胞质化石研究进展

王鑫

中国科学院南京地质古生物研究所, 现代古生物学和地层学国家重点实验室, 南京 210008

摘要 近年来古植物学研究表明, 植物细胞质确实可以保存为化石。随着相关研究技术的进步, 研究发现植物化石中具有和现代植物相似的超微结构。特殊情况下, 植物细胞质化石研究能够帮助解决现代生物学中某些难以解决的问题。高温和野火在植物细胞质化石的形成过程中起到了重要作用, 而一个过去被古生物学家视而不见的自然现象——雷电可能对某些超微结构的固定起到了关键作用。植物细胞质化石研究把古植物学推向一个新的研究层面和方向, 促进了与其他学科之间的融合, 也把一些新的研究手段引入到了古生物学中。本文回顾植物细胞质化石的研究历程, 总结研究成果和经验, 并对未来发展趋势进行了展望。

关键词 植物细胞质; 化石; 超微结构; 古植物学

中图分类号 Q911.2, Q914.2*9, Q944.5

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.07.018

Progress in the study on plant cytoplasm fossils

WANG Xin

State Key Laboratory of Palaeobiology and Stratigraphy; Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

Abstract Plant cytoplasm fossil appears intangible for many palaeontologists. The palaeobotanical practice in the past decades has indicated that plant cytoplasm fossil is a truthful existence. With the improvement of observing technologies, many ultrastructures comparable to those in living plants are being revealed. Sometimes the study on fossil plant cytoplasm can lend critical help to modern biologists on some headache problems. High temperature and wild fire play a key role in the fossilization of plant cytoplasm, and a formerly frequently ignored phenomenon, lightning, is of special importance for the fixation of some ultrastructure in fossil plant cells. The study on plant cytoplasm fossils helps lead palaeobotany onto a new level, promotes its fusion with other scientific disciplines, and also introduces new technologies into palaeontology. This paper reviews the history of plant cytoplasm fossil study, summarizes the achievement and knowledge accumulated so far, and depicts the future development in this field.

Keywords plant cytoplasm; fossil; ultrastructure; palaeobotany

在古生物学中, 形成化石的重要条件是被保存的生物对象必须要有硬体。按照这个“规律”, 细胞质在传统的古植物学概念中是“不应该”存在的, 因为它们缺少硬体。但是, 古植物学实践表明, 保存程度各异的细胞残余物是可以保留下来的^[1-20]。植物细胞质化石指史前植物的细胞及其内容物经长期的地质过程后所留下的遗存。到目前为止, 从低等的藻类^[1,21,22]、石松类^[2]、真蕨类^[3,23]、裸子植物^[9,24-27], 到最进化的被子植物^[5-8,28], 其化石中都曾经发现过细胞质。这些具有超微结

构的植物化石的年代从近十亿年前的元古代断断续续地延续到近现代。

1 植物细胞质化石研究

植物细胞质化石短暂的研究历史, 按照研究手段的不同大致可以分成2个阶段。

1) 第1阶段, 是指1970年代以前主要以使用光学显微镜为特征的研究。至少早在1930年代人们就发现在细胞壁围

收稿日期: 2014-12-30; 修回日期: 2015-02-06

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2012CB821901); 中国科学院科技创新交叉与合作团队计划项目(2013-2015);

国家自然科学基金项目(40772006, 91114201, 41172006)

作者简介: 王鑫, 研究员, 研究方向为植物细胞质化石和被子植物起源, 电子信箱: xinwang@nigpas.ac.cn

引用格式: 王鑫. 植物细胞质化石研究进展[J]. 科技导报, 2015, 33(7): 108-113.

成的细胞腔中会有各种各样的有机质残余^[2,20]。在保存较好的情况下,细胞内部结构像海绵一样充满了空腔,这跟充满了液泡的植物细胞质十分相似,似乎细胞本身并未完全降解或者说根本就降解^[3,12,14,21,22]。例如,Darrah^[2,20]报道了美国石炭纪卷柏化石中的细胞内容和细胞核。随着研究的不断深入,人们发现了保存更加完好的材料,也观察到了一般情况下在化石中看不到的生物学现象和特征。如,1962年,Bradley^[29]就报道了美国怀俄明始新世藻类化石中的叶绿体。即使进入了透射电子显微镜时代,光学显微镜依然发挥着重要作用。如,2006年,Ozerov等^[10]通过光学显微镜观察研究了俄罗斯始新世被子植物化石中具有染色活性的细胞核和DNA。

2) 第2阶段,指1970年代以后主要以使用透射电子显微镜为特征的研究。相对传统的光学显微镜,透射电子显微镜有着无法比拟的分辨率,可以清楚地显示化石植物细胞的亚显微结构,使之可以和现代材料进行更加细致的对比,增加了有关工作的可信度。透射电镜技术在古植物学中的广泛应用使得人们能够在植物细胞质化石中确认平常只能见于活细胞中的各种各样的超微结构,相关知识也得到了更大的普及^[3,4,6-9,18,24,27,30,31]。

2 植物细胞质化石的超微结构

随着透射电镜技术的提高和广泛应用,最近的研究已经在化石植物细胞中观察到了各种各样的亚细胞结构。主要表现在以下几个方面。

1) 细胞核。1938年Darrah^[2,20]报道了美国石炭纪的石松类植物化石中的细胞核。Niklas等^[4,6,7]通过透射电镜在美国中新世的硅藻土中保存的被子植物叶化石中发现细胞核。后来Poinar等^[8]在多梅尼加中新世保存于琥珀中的豆科植物叶化石中也发现了类似细胞核的结构,Ozerov等^[10]通过光学显微镜观察研究了俄罗斯始新世被子植物化石中具有染色活性的细胞核和DNA,Bomfleur等^[23]2014年报道了瑞典侏罗纪紫萁科蕨类化石中的类似细胞核和染色体的结构。

2) 线粒体。线粒体具有两层膜包围和向内突出的嵴,使得线粒体在植物细胞质化石中十分易于辨认。Niklas等^[4,5,7,24]、Poinar等^[8]、Koller等^[31]、王鑫等^[12,32]先后报道了美国、多米尼加、巴尔干半岛、中国内蒙古自治区等地区中生代植物叶化石中保存的线粒体。

3) 叶绿体。叶绿体外面的两层膜包裹和内部具有典型片层结构的基粒使之在化石里比较容易辨认。1962年Bradley^[29]报道了美国怀俄明始新世藻类化石中的叶绿体。Niklas等^[6,7,24]、Poinar等^[8]、Vikulina^[30]、Koller等^[31]先后仔细研究报道了美国、多米尼加、俄罗斯、巴尔干半岛新生代被子植物和松柏类叶化石中保存的叶绿体。Schönhut等^[9,27]深入研究了加拿大北极地区始新世水杉叶中的叶绿体,并对其形成机制进行了模拟实验和探讨。最近的报道是2014年对中国海南始新世莲叶化石中叶绿体的研究(图1(e))^[20]。

此外,Golenberg等^[33]和Kim等^[34]先后报道了美国中新世被子植物叶化石中提取的DNA片段。Koller等^[31]报道了巴尔干半岛中新世琥珀中保存的松柏类植物中的高尔基体。最近中国安徽晚元古代的藻类化石和内蒙古自治区早白垩世植物化石材料中发现了类似内质网的超微结构^[1,32]。

3 植物细胞质的化石化机制

按照传统的观念,植物细胞化石是“不应该”存在的。当植物死亡以后,一般情况下植物细胞会启动降解程序。但是降解过程并不是无条件发生的,离开了酶的参与,这个过程就无法发生或者进行得非常缓慢。而酶作为一种特殊的蛋白质,对环境的要求非常苛刻,pH值和温度的变化都会使酶变性、失去其特有的催化作用。因此,植物细胞的降解过程是可以被制止的,这为植物细胞质化石留下了一线生机。

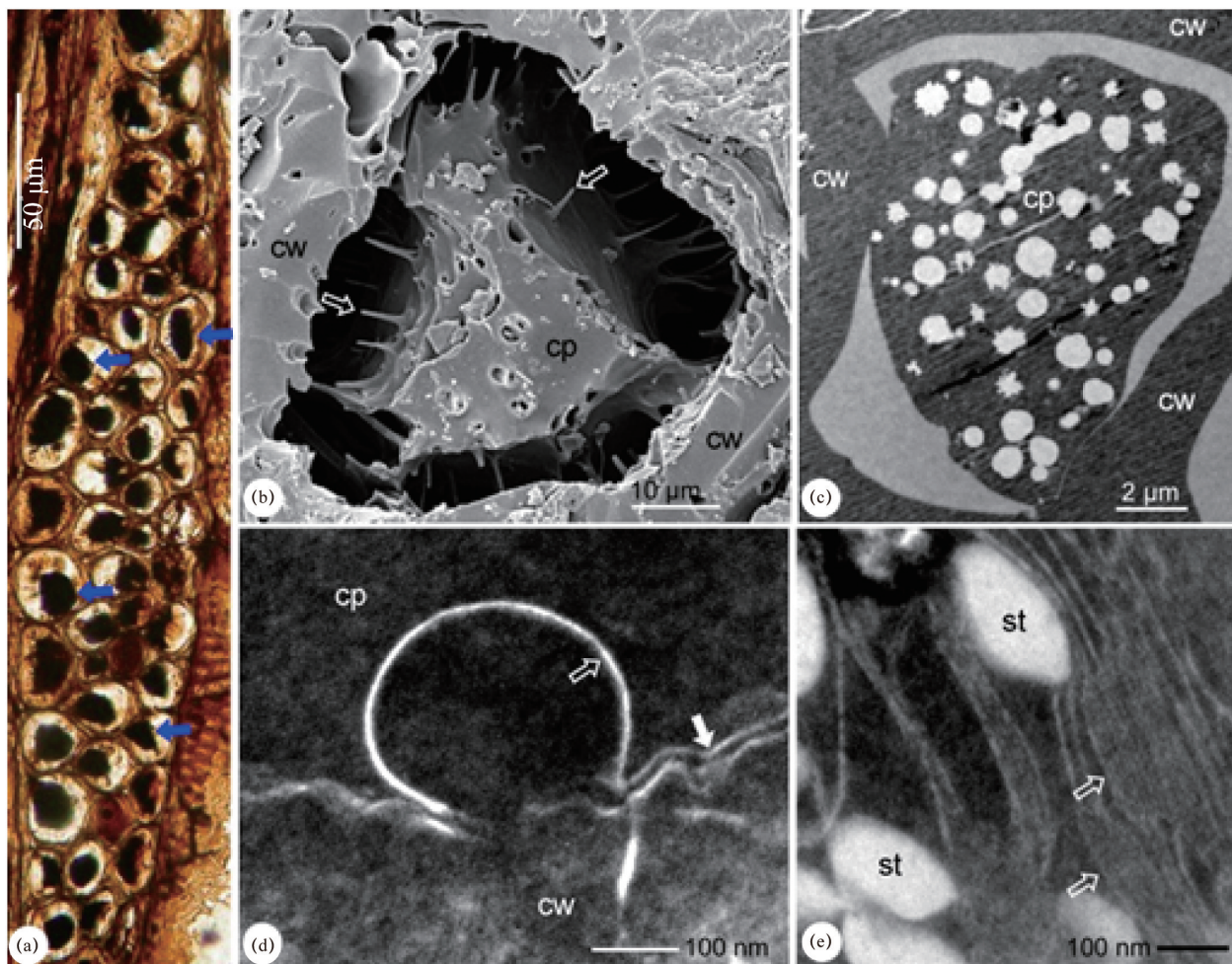
在自然界,pH值和温度发生变化是很普遍的现象。例如:1) 植物死亡后,原来被局限于细胞中某些细胞器(如液泡)中的后含物(如单宁)会随着细胞器膜完整性的丧失而扩散到细胞中,起到自我固定作用并且阻止细菌的侵蚀。实践证明,这种作用保存下了非常好的超微结构,包括叶绿体、线粒体、细胞核、甚至具有孚尔根(Feulgen)染色活性的DNA^[5,9,10,27]。2) 外界的环境能改变生物死亡后pH值,终止软体组织的降解过程。研究表明,稳定的碱性水体、酸性水体、低温和缺氧都会有助于超微结构的保存^[5,9,27,35]。3) 也许是最重要的,自然界中常见的野火所带来的高温是蛋白质的最大杀手,这不仅为古植物学实践所证实(图1(b)~(c)),而且为现代植物材料的模拟实验所确认^[12,14,32,36-39],高温火山灰的快速干燥作用和高温烘烤作用能够迅速终止软体组织的降解过程^[38]。上述3种机制可以有效地阻止植物细胞的降解过程,而后期的地质作用会使这些植物材料变成化学性质非常稳定的炭化材料。这样植物细胞质就可以保留下来,形成化石。最新的研究表明^[12,16,17],雷电对细胞质化石的形成有独特贡献。

4 植物细胞质化石的赋存方式

植物化石以各种各样的方式保存于地层中。目前为止,最有利于植物细胞质化石研究的保存方式主要包括以下3种。

1) 矿化材料。矿化材料在传统的古植物学中就是非常优秀的化石保存方式。历史上有很多保存精美的植物化石都是矿化材料,细胞质化石也不例外。例如,Millay等^[40]在美国石炭纪的矿化材料中观察到了华丽木雄性配子体中的细胞核。Nishida等^[25,26]在澳大利亚二叠纪的矿化材料中观察到了舌羊齿植物中带有鞭毛的活动精子。Bomfleur等^[23]观察到了瑞典侏罗纪紫萁科植物中的类似细胞核和染色体的结构。这种材料的优点是三维保存,解剖结构清晰。但是由于材料本身的原因,其超微结构往往难于在透射电子显微镜下观察,相关研究往往只能止步于显微结构的观察(图1(a))。

2) 琥珀包埋。琥珀包埋的化石的特点是一经包埋化石



(a) 中国海南始新世木材中的射线薄壁细胞中的细胞质化石光镜照片,如蓝色箭头所示;(b) 美国白垩纪一炭化果实中的植物细胞(cp),该细胞被细胞壁(cw)所包围,由于失水收缩而发生了质壁分离,但是细胞还和周围细胞通过胞间连丝相连,因而细胞周围形成了很多刺状的结构,图中箭头所示,扫描电镜照片,引自文献[16];(c) 美国白垩纪一枝条中炭化的、被细胞壁包围的植物细胞,细胞与细胞壁之间的空隙及其内部的海绵状结构,透射电镜照片;(d) 美国中新世松柏类球果的表皮细胞中正在进行的胞吐现象,注意细胞壁(cw)、细胞质(cp)、小泡膜(空心箭头)与细胞膜(实心箭头)之间的关系,透射电镜照片,引自参考文献[17];(e) 中国海南始新世莲叶中的叶绿体的超微结构,注意典型的片层结构(箭头)与淀粉粒(st)的空间关系,透射电镜照片,引自文献[18]

图1 植物细胞质化石及其超微结构

Fig. 1 Plant cytoplasm fossils and their ultrastructures

材料和外界的物质交换就很少,因此不仅化石原有的形貌一般都能得到很好的三维保存,而且大多数情况下植物材料的细胞内容物及其超微结构也会翔实地保存下来。例如,Poinar等^[8]和Koller等^[11]分别独立地在新生代的种子植物叶化石中观察到了保存精美的细胞核、线粒体、叶绿体等超微结构。尽管琥珀包埋的植物材料具有三维保存、保存精美的长处,但是也有其无法回避的短处,即化石材料的年龄较轻,化石资源也相对稀少。

3) 炭化实体。由于植物材料本身组成的原因,经过高温的烘烤以后,植物的实体会直接形成能够长期保存的化石。炭化的材料是最常见的植物化石赋存形式。其中丝炭化材料是自植物材料本身经过高温烘烤形成的,具有性质稳定、解剖结构清晰等特点,成为很多研究者的最佳研究对象(图1

(b)和(c))。这些材料在光学显微镜和(扫描、透射)电子显微镜下会呈现出各种各样宏观和微观的结构特征。例如,人们观察到的细胞核^[2,4,6,7,10,20],线粒体^[4,5,7,8,12,24,31,32],叶绿体^[6-8,18,24,30,31]等超微结构大多都是出自炭化的植物化石材料。

5 全球主要研究机构

植物细胞质化石的研究虽然经历了几十年的历史,但是主要的进步在最近30~40年。目前国际上参与这项研究的学者主要来自美国、德国、俄国、日本、法国、瑞典、澳大利亚等国,各国家开展相关研究的程度并不均衡。其中美国的研究可能最为发达,主要表现在从事相关研究的学者人数众多,研究历史长,研究程度深,研究机构多且分散,发表论文数量多。著名的研究者包括哈佛大学的Darrah,美国地质调

查局的 Bradley, 加州大学的 Oehler、Golenberg、Durbin、Henderson, 康奈尔大学的 Niklas, 北卡大学的 Brown, 伊利诺斯大学的 Millay 和 Eggert, 俄亥俄州立大学的 Taylor, 宾夕法尼亚大学的 Schönhut、Vann、LePage, 俄勒冈州立大学的 Poinar, 亚利桑那州立大学的 Pigg, 佐治亚大学的 Clegg, 爱达荷大学的 Smiley 和佛罗里达大学的 Kim。研究成果包括对植物细胞质化石从光学显微镜观察, 到细胞内超微结构的透射电子显微镜观察, 到细胞内容物中的有机分子(包括 DNA)的提取和分析。值得关注的是, Niklas 对植物化石中的超微结构和有机大分子, Schönhut 等对叶绿体及其保存机制, 以及 Golenberg 等、Kim 等对化石植物中 DNA 序列进行了深入研究。仅次于美国的是俄罗斯, 主要研究人员集中在科马洛夫植物研究所, 主要包括 Ozerov, Zhilin, Yakovleva 和 Vikulin。他们的研究成果主要体现在对新生代植物叶片中细胞以及超微结构的观察。德国慕尼黑大学的 Poinar 和 Melzer, 柏林自由大学的 Koller、Schmitt 和 Tischendorf 的工作主要集中于对琥珀中包埋的植物细胞中超微结构的观察与研究。另外还有日本中央大学的 Nishida, 瑞典自然历史博物馆的 Bomfleur 和 McLaughlin, 隆德大学的 Vajda, 以及澳大利亚昆士兰理工大学的 Rigby, 这些学者的研究主要是对于矿化材料中细胞质的光学显微镜观察。

中国学者参与植物细胞质化石研究的历史比较短暂。中国科学院南京古生物地质研究所王鑫, 西北大学刘文哲, 南京师范大学杜开和, 中国科学院植物研究所崔金钟, 中山大学金建华, 中国科学院深圳仙湖植物园的李楠、邓焕祥、张文虎, 中国科学院化学研究所方晓红、余军平、张宇亮参与了相关的研究。2004 年, 文献[12]刊登了对美国堪萨斯中白垩世植物材料中细胞质化石的研究结果, 报道了保存完好的植物细胞质化石及其内部包括类似线粒体和核糖体在内的超微结构, 并提出某些细胞质化石的保存可能得益于雷电现象。后来中国科学院南京古生物地质研究所、中国科学院植物研究所、中国科学院化学研究所、中山大学合作报道了中国不同地点和时代的植物细胞质化石, 发现了包括类似内质网和线粒体等的超微结构^[32], 同时与中国科学院仙湖植物园同行开展了高温化石模拟实验, 提出了植物细胞质的高温化石化假说^[14,37]。2007 和 2011 年, 中国科学院南京古生物地质研究所与南京师范大学、西北大学合作研究了美国中新世松柏类球果表皮细胞中转瞬即逝的生理活动过程——胞吐和膜融合现象^[16,17], 为此前提出的雷电化石化作用提供了有力的支持, 同时也为研究现代生物中的胞吐和膜融合现象提供了以前无法得到的帮助。2008 年, 中国科学院南京古生物地质研究所与中国科学院化学研究所应用原子力显微镜对美国中新世植物细胞质化石的超微结构进行了观察^[19], 该实验的成功经验后来被转移推广到对于现代植物细胞中的超微结构的研究上去^[41]。2011 年, 中国科学院南京古生物研究所发表了对于 8 亿年前晚元古代化石藻类中的细胞质及其中类似内质网的超微结构的研究成果, 从超微结构的角度

上证实了真核生物在元古代的存在^[1]。最近中国科学院南京古生物地质研究所与中山大学合作研究发表了海南始新世莲中叶绿体的超微结构^[18]。

6 化石植物的生理活动与雷电现象

大多数情况下, 古植物学研究的精细程度无法超越现代植物学研究。但是, 个别情况下, 关于化石植物细胞中的胞吐和膜融合现象的研究打破了这个惯例, 为现代生物学研究助了一臂之力。

真核生物的细胞中, 很多物质的转运是靠细胞中的小泡来完成的。当细胞中的物质需要运输到细胞外的时候, 载着这些物质的小泡就会运动到细胞的边缘, 这时小泡的膜会和细胞膜彼此靠近、连接, 形成融合孔, 最后通过融合孔释放小泡中的内容。这一过程在真核生物中普遍存在, 而且和很多生理过程有关系, 需要很多酶的参与和协同合作才能完成, 因此长期以来一直是现代生物学家研究的重点和难点之一, 主要原因在于小泡的膜和细胞膜从彼此靠近过渡到相互融合的过程是非常快的, 一般几毫秒即可完成。现代速度最快的样品固定技术可以在 2 ms 完成样品的固定^[42], 但是即使使用这种技术人们也无法完美地捕捉到这一生理活动的瞬间, 目前很多相关的研究和计算机模拟只能建立在假设的基础之上, 因此当在美国中新世的植物细胞中清楚看到类似胞吐和膜融合的超微结构时(图 1(d))^[16,17], 不仅引起了古植物学家的惊奇, 而且引起了现代植物学家浓厚的兴趣, 因为此前人们从未在透射电镜下如此清晰地观察到这个转瞬即逝的膜融合过程及相应的膜结构细节和变化, 同时此次化石中看到的双层磷脂分子组成的单位膜与单层磷脂分子组成的半单位膜之间的融合现象也是绝无仅有的。

2004 年, 雷电现象首次被与某些植物细胞质的化石化联系起来^[12]。但是此后支持这种假说的证据却很少看到, 而化石中的胞吐现象为这个学说提供了有力的证据^[16,19]。这种转瞬即逝的生理现象在化石中的出现表明其固定过程非常迅速, 可能比人类现有最快的生物样品固定技术还要快。在所有常见的自然现象中, 能够在 1 s 内完成的恐怕就只有雷电现象了。大气物理研究表明, 伴随着雷电现象的是强大的电流和磁场变化以及巨大能量的瞬间释放, 这些能量很可能对被击中的植物有致命、快速的固定作用^[43-46]。雷电引发的野火可以把上述过程中固定的植物材料进一步炭化为可以永久保存的化石材料^[38]。因此像膜融合现象这样的现代生物技术都难于捕捉的植物生理现象, 看来只有雷电才有能力有效地完成对其的固定过程, 这是雷电这个以快速著称的自然现象首次进入经常研究非常缓慢的生物进化过程的古生物学家的视野。

7 研究方法、技术与动向

人们之所以最近才开始认识到在这个世界上已经存在了上亿年的植物细胞质化石, 很大程度上和人类观察世界的

手段和技术的提高密切相关。上述植物化石细胞中的超微结构的发现在很大程度上依赖于透射电子显微镜技术的发展。可以预见,这方面的研究中未来还会随着新技术的不断出现而出现新的发展。未来有可能促进植物细胞质化石研究的新技术包括原子力显微镜、聚焦离子束扫描电子显微镜和分子生物学。

原子力显微镜是20世纪90年代以来发展起来的技术,它能够观察到物体表面细微的起伏变化。应用这项技术来观察植物细胞质化石的初步实验证明,植物细胞质化石具有和现代的植物细胞质中类似的超微结构^[19]。虽然目前大规模的应用还没有开展起来,具体操作也需要克服一定的困难,但是,随着研究的不断深入,原子力显微镜会在细胞质化石研究中发挥更大的作用。

聚焦离子束扫描电子显微镜不仅具有普通扫描电子显微镜观察样品表面形态的功能,而且还可以对观察的样品进行显微加工,使人们可以看到样品内部以前无法看到的结构。虽然该技术目前在古植物学中仅限于对孢粉的研究^[47],但是植物细胞质化石的研究很显然同样需要用聚焦粒子束来加工处理样品以达到揭示化石植物细胞质更多层面的特征和结构。因此,可以期许聚焦离子束扫描电子显微镜在未来的植物细胞质化石研究中将发挥重要的作用。

分子生物学最近几十年得到了迅速的发展,但是目前与古生物学的结合还很少。实践证明,DNA、氨基酸和其他有机大分子都有可能保存在化石植物材料中^[33,34,48~51]。植物细胞质化石的存在是开展相关工作的重要前提,随着人们对这些化石的深入研究,借用分子生物学的手段对史前生物进行研究将不再是白日做梦。生命大分子中的主要结构和性能都和其中碳原子在空间的排列有关系。目前植物细胞质化石的主要保存形式是炭化材料,主要由碳原子组成。考虑到现代透射电镜已经能够看到原子级别大小的对象,如果未来人们能够充分掌握现代植物材料中有机大分子的碳原子在炭化过程的变化规律,通过反推法推测化石植物中有机大分子的结构和功能并非完全不可能。这个目标目前看起来很远,需要等待很多技术的出现和成熟,需要掌握在非提纯条件下通过碳原子之间的空间关系识别和重建有机大分子的架构等目前还无人问津的技术。但是随着技术的进步,这种遥远的目标并非完全不能实现。努力和尝试是通向成功的关键。

8 相关研究的科学意义

植物细胞质化石在地球上已经存在了上亿年,人们只是到了最近才开始认识到它们的存在。这种迟到的认识反映的不是客观存在最近才发生了变化,而是研究者关注焦点的不同和观察自然的技术和手段上的进步。植物细胞质化石从无到有的过程说明自然界存在人类不曾认知的方面和层面。可以肯定,随着研究手段的进步,对于自然界各方面的持续关注和研究将会揭示更多自然界的奥秘。

植物细胞质化石按照传统理论是“不准有”的东西,因为它们不具备前人总结的形成化石的必要条件。它的出现促使人们重新审视称之为“规律”的东西,并考量它们对人类思维的影响。规律只是人类对于已知的自然现象的规则性的总结和归纳,带有一定的片面性,这种归纳和总结受当事人经验的限制,因此应当时刻警惕每个规律会有失效的时候。

植物细胞质化石研究既需要现代植物学知识,也需要古生物学基础;既需要大胆的想法,更需要踏踏实实的科学精神;既需要个人的独创精神,又需要团队的精诚合作;既需要精湛的操作技术和先进的观察手段,也需要缜密的思考和逻辑推导;既需要对现有知识的尊重和利用,又需要推翻前人定论的勇气和胆略。因此,和其他研究一样,植物细胞质化石研究要求人们跨越学科之间的界限,大胆细心认真地钻研,以求赢得最终与自然的高度和谐。

9 中国相关研究的未来

作为新生事物,植物细胞质化石研究目前并没有得到科学界和普通公众的广泛认可。这门学科的未来取决于很多方面的因素。其中一个重要的影响因素就是相关研究成果能在多大程度上影响公众的认知。科学界围绕植物细胞质化石观念的改变能够促使公众认清科学的本质,并激发公众参与科学研究的热情。目前中国相关研究的可喜之处是研究起点高、化石材料丰富、研究潜力大,但研究人员少、经费支持少。随着研究意识的提高和重视,中国植物细胞质化石研究一定会取得突破。

致谢 南京师范大学杜开和、西北大学刘文哲、中山大学金建华、中国科学院植物研究所崔金钟、中国科学院化学研究所方晓红、中国科学院仙湖植物园李楠给予大力支持。

参考文献(References)

- [1] Wang X, Yuan X, Zhou C, et al. Anatomy and plant affinity of *Chuarina* [J]. Chinese Science Bulletin, 2011, 56(12): 1256-1261.
- [2] Darrah W C. A remarkable fossil *Selaginella* with preserved female gametophytes[J]. Botanical Museum Leaflet Harvard University, 1938, 6(6): 113-135.
- [3] Taylor T N, Millay M A. Structurally preserved fossil cell contents[J]. Transaction of American Microscope Society, 1977, 96(3): 390-393.
- [4] Niklas K J. Differential preservation of protoplasm in fossil angiosperm leaf tissues[J]. American Journal of Botany, 1982, 69(3): 325-334.
- [5] Niklas K J. Organelle preservation and protoplast partitioning in angiosperm leaf tissues[J]. American Journal of Botany, 1983, 70(4): 543-548.
- [6] Niklas K J, Brown R M, Santos R, et al. Ultrastructure and cytochemistry of Miocene angiosperm leaf tissues[J]. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America, 1978, 75(7): 3263-3267.
- [7] Niklas K J, Brown R M J, Santos R. Ultrastructural states of preservation in *Clarkia* angiosperm leaf tissues: Implications on modes of preservation[M]//Smiley C J. Late Cenozoic History of the Pacific Northwest. San Francisco: American Association for the Advancement of Science, Pacific Division, 1985.
- [8] Poinar H N, Melzer R R, Poinar G O. Ultrastructure of 30-40 million year old leaflets from Dominican amber (*Hymenaea protera*, Fabaceae:

- Angiospermae[J]. *Experimentia*, 1996, 52(4): 387–390.
- [9] Schoenhut K, Vann D R, Lepage B A. Cytological and ultrastructural preservations in Eocene Metasequoia leaves from the Canadian High Arctic[J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(6): 816–824.
- [10] Ozerov I A, Zhinkina N A, Efimov A M, et al. Feulgen-positive staining of the cell nuclei in fossilized leaf and fruit tissues of the lower Eocene Myrtaceae[J]. *Botanical Journal Linnean Society*, 2006, 150(3): 315–321.
- [11] Zhilin S G, Yakovleva O V. On the preservation of anatomical and ultrathin structures of the leaf compressions of *Eucommia palaeoulmoides* (Eucommiaceae) from the Miocene in Kazakhstan[J]. *Botanicheskii Zhurnal*, 1994, 79(10): 1–8.
- [12] Wang X. Plant cytoplasm preserved by lightning[J]. *Tissue & Cell*, 2004, 36(5): 351–360.
- [13] Wang X. A chemical signal possibly related to physiology in fossil cells detected by energy dispersive X-ray microanalysis[J]. *Tissue & Cell*, 2006, 38(1): 43–51.
- [14] Wang X. High temperature as a mechanism for plant cytoplasm preservation in fossils[J]. *Acta Geologica Sinica*, 2007, 81(2): 183–193.
- [15] Wang X, Du K, Yi T, et al. Cytoplasmic remains in an Eocene fossil stem[J]. *IAWA Journal*, 2010, 31(3): 363–367.
- [16] Wang X, Liu W, Cui J, et al. Palaeontological evidence for membrane fusion between a unit membrane and a half-unit membrane[J]. *Molecular Membrane Biology*, 2007, 24(5/6): 496–506.
- [17] Wang X, Liu W, Du K. Palaeontological evidence of membrane relationship in step-by-step membrane fusion[J]. *Molecular Membrane Biology*, 2011, 28(2): 115–122.
- [18] Wang X, Liu W, Du K, et al. Ultrastructure of chloroplasts in fossil *Nelumbo* from the Eocene of Hainan Island, South China[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2014, 10: 2259–2264.
- [19] Wang X, Yu J, Fang X. An AFM observation on fossil cytoplasm[J]. *Acta Geologica Sinica*, 2008, 82(6): 1141–1145.
- [20] Darrah W C. Textbook of paleobotany[M]. New York: D. Appleton-Century Company, 1939.
- [21] Oehler D Z. Transmission electron microscopy of organic microfossils from the late Precambrian Bitter Springs Formation of Australia: Techniques and survey of preserved ultrastructure[J]. *Journal of Paleontology*, 1976, 50(1): 90–106.
- [22] Oehler D Z. Pyrenoid-like structures in late Precambrian algae from the Bitter Springs Formation of Australia[J]. *Journal of Paleontology*, 1977, 51(5): 885–901.
- [23] Bomflour B, McLoughlin S, Vajda V. Fossilized nuclei and chromosomes reveal 180 million years of genomic stasis in royal ferns [J]. *Science*, 2014, 343(6177): 1376–1377.
- [24] Niklas K J, Brown R M. Ultrastructural and paleobiochemical correlations among fossil tissue from the St. Maries River (Clarkia) area, Northern Idaho, USA[J]. *American Journal of Botany*, 1981, 68(3): 332–341.
- [25] Nishida H, Pig K B, Rigby J F. Swimming sperm in an extinct Gondwanan plant[J]. *Nature*, 2003, 422(6930): 396–397.
- [26] Nishida H, Pigg K B, Kudo K, et al. Zooidogamy in the late Permian genus *Glossopteris*[J]. *Journal of Plant Research*, 2004, 117(4): 323–328.
- [27] Schoenhut K. Environmental implications of the preservation of chloroplast ultrastructure in Eocene *Metasequoia* leaves[J]. *Paleobiology*, 2005, 31(3): 424–433.
- [28] Niklas K J, Brown R M. Some chemophysical factors attending fossilization[J]. *Bioscience*, 1981, 31(2): 148–149.
- [29] Bradley W H. Chloroplast in *Spirogyra* from the Green River Formation of Wyoming[J]. *American Journal of Science*, 1962, 260(6): 455–459.
- [30] Vikulin S V. The Eocene and early Oligocene floras of the Russian Plain and their relation to the palaeofloras of central Europe[J]. *Acta Palaeobotanica*, 1999, 2(Suppl 1): 429–445.
- [31] Koller B, Schmitt J M, Tischendorf G. Cellular fine structures and histochemical reactions in the tissue of a cypress twig preserved in Baltic amber[J]. *Proceeding of Royal Society B*, 2005, 272(1559): 121–126.
- [32] Wang X, Cui J. The first observation on plant cell fossils in China[J]. *Acta Geologica Sinica*, 2007, 81(1): 16–22.
- [33] Golenberg E M, Giannasi D E, Clegg M T, et al. Chloroplast DNA sequence from a Miocene *Magnolia* species[J]. *Nature*, 1990, 344(6267): 656–658.
- [34] Kim S, Soltis D E, Soltis P S, et al. DNA sequences from Miocene fossils: An *ndhF* sequence of *Magnolia latahensis* (Magnoliaceae) and an *rbcL* sequence of *Persea pseudocarolinensis* (Lauraceae) [J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(4): 615–620.
- [35] Niklas K J, Giannasi D E. The paleobiochemistry of fossil angiosperm floras. Part II. Diagenesis of organic compounds with particular reference to steroids[M]. Smiley C J. Late Cenozoic history of the Pacific Northwest. San Francisco: American Association for the Advancement of Science, Pacific Division, 1985.
- [36] Edwards D, Axe L. Anatomical evidence in the detection of the earliest wildfires[J]. *Palaeos*, 2004, 19(2): 113–128.
- [37] Li N, Deng H X, Zhang W H, et al. The impact of high temperature on living plant cytoplasm[J]. *Acta Palaeontologica Sinica*, 2013, 52(4): 484–491.
- [38] Scott A C. Preservation by fire [M]/Briggs D E G, Crowther P R. *Palaeobiology II*. Malden: Blackwell Science, 2001.
- [39] Scott A C, Cripps J A, Collinson M E, et al. The taphonomy of charcoal following a recent heathland fire and some implications for the interpretation of fossil charcoal deposits[J]. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 2000, 164(1–4): 1–31.
- [40] Millay M A, Eggert D A. Microgametophyte development in the Paleozoic seed fern family Callistophytaceae[J]. *American Journal of Botany*, 1974, 61(10): 1067–1075.
- [41] Wang X, Zhang Y, Du K, et al. Atomic force microscope observation on ultrastructures in plant cells[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2010, 10(10): 6624–6628.
- [42] Heuser J E, Reese T S, Dennis M J, et al. Synaptic vesicle exocytosis captured by quick freezing and correlated with quantal transmitter release[J]. *Journal of Cell Biology*, 1979, 81(2): 275–300.
- [43] Dwyer J R, Uman M A, Rassoul H K, et al. Energetic radiation produced during rocket-triggered lightning[J]. *Science*, 2003, 299(5607): 694–697.
- [44] Rakov V A, Uman M A. *Lightning: Physics and effects*[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.
- [45] Login G R, Dvorak A M. *Methods of microwave fixation for microscopy* [M]. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1994.
- [46] Schichnes D, Nemson J A, Ruzin S E. *Microwave paraffin techniques for botanical tissues* [M]/Giberson R T, Demaree R S. *Microwave Techniques and Protocols*. Totowa: Humana Press, 2001.
- [47] Villanueva-Amadoz U, Benedetti A, Méndez J, et al. Focused ion beam nano-sectioning and imaging: A new method in characterisation of palaeopalynological remains[J]. *Grana*, 2012, 51(1): 1–9.
- [48] Poinar H N, Höss M, Bada J L, et al. Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA[J]. *Science* 1996, 272(5263): 864–866.
- [49] Poinar H N, Stankiewicz B A. Protein preservation and DNA retrieval from ancient tissues[J]. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 1999, 96(15): 8426–8431.
- [50] Niklas K J. Morphological and chemical examination of *Courvoisiella ctenomorpha* gen. et sp., a siphonous alga from the upper Devonian, West Virginia, U.S.A.[J]. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 1976, 21(3): 187–203.
- [51] Niklas K J. Paleophytochemistry: Implications concerning plant evolution [J]. *Paleobiology*, 1981, 7(1): 1–13.

(责任编辑 刘志远)